

## *Dedna oblika malignega melanoma*

**Barbara Perić in Marko Hočevar**

### **Uvod**

Maligni melanom kože je vse do osemdesetih let veljal tako v svetu kot v Sloveniji za razmeroma redko bolezen. V zadnjih dvajsetih letih pa incidenca raste s podvojitvijo vsakih 6 do 10 let. Incidenca malignega melanoma kože torej narašča hitreje kot pri drugih oblikah raka. V Sloveniji je bila v letu 2001 13,2 na 100.000 prebivalcev, kar nas v primerjavi z drugimi evropskimi državami uvršča v zgornjo polovico. Večjo incidenco imajo v ZDA, v letu 2004 18 na 100.000 prebivalcev, in v Avstraliji, kjer je incidenca v letu 2004 kar 35 na 100.000 prebivalcev. Vzporedno z incidenco pa narašča tudi umrljivost. 5-letno preživetje bolnikov z malignim melanomom kože pade v primeru napredovale bolezni s 96 % na 12 %. Ker pogosto zbolijo mladi ljudje in ker so možnosti zdravljenja pri napredovali obliki bolezni omejene, je vse več raziskav usmerjenih v preventivo in zgodnje odkrivanje bolezni.

Dejavniki tveganja za pojav malignega melanoma so dejavniki okolja in tudi spremembe genoma. Na incidenco vplivajo geografska lokacija, izpostavljenost sončnim žarkom in tip kože. 10 % bolnikov z malignim melanomom ima pozitivno družinsko anamnezo; ta na splošno predstavlja 2-krat večje tveganje za pojav malignega melanoma.

Ko govorimo o družinski obliki malignega melanoma, jo lahko razdelimo v tri skupine: sporadične primere melanoma, ki se naključno kopičijo v nekaterih družinah, družinsko obliko melanoma, ki je posledica nizko penetrantnih alelov, in družinsko obliko, ki je posledica visoko penetrantnih alelov. To zadnjo obliko imenujemo tudi dedna oblika malignega melanoma in je razmeroma redka, v to skupino spada približno 1 % vseh melanomov. O dedni obliki malignega melanoma govorimo, ko se le-ta pojavi pri dveh ali več posameznikih v družini, značilno 10 do 20 let prej kot pri sporadičnih primerih, poleg tega pa imajo posamezniki pogosto multiple primarne melanome. V primeru družin, katerih člani imajo maligni melanom kože in/ali atipične nevuse, govorimo o sindromu FAMMM (Familial Atypical Multiple Mole/Melanoma).

### **Visoko penetranten CDKN2A-gen**

CDKN2A-gen na lokusu 9p21 je tumor supresorski gen, povezan z dedno obliko malignega melanoma. Produkt gena sta proteina p16 in p14ARF. Oba imata skupen drugi in tretji ekson, prvi pa je različen. Ob nastanku p16 se prepiše ekson 1a, ob nastanku p14ARF pa ekson 1b. p16 inhibira kompleks ciklina D in kinaze 4 (CDK 4) ali kinaze 6 (CDK 6), kar zavre fosforilacijo proteina Rb (protein retinoblastoma), celični cikel

pa se ustavi v fazi G<sub>1</sub>. Okvarjen protein p16 omogoči fosforilacijo proteina Rb, vstop v S-fazo in prezgodnje nadaljevanje celičnega cikla. p14ARF prepreči razgradnjo p53, kar ustavi tako fazo G<sub>1</sub> kot G<sub>2</sub>. Poleg tega vpliva tudi na transkripcijske dejavnike, na katere se veže protein Rb. Večina mutacij se nahaja na eksonu 1a ali na drugem eksonu. Pogostost teh mutacij naraste s približno 0,01 % v splošni populaciji na 40 % v družinah z dedno obliko malignega melanoma. Mutacije na drugem eksonu inaktivirajo p16 in p14ARF. Do sedaj so odkrite so le tri mutacije, ki se nahajajo na eksonu 1b. Pri bolniku z multiplimi primarnimi melanomi je bila dokazana insercija na eksonu 1b, v družini s štirimi obolelimi člani delecija, opisana pa je tudi substitucija pri dveh članih družine z malignim melanomom.

Spremenjen CDKN2A najdemo pri 50 % družin s sindromom FAMM, a povezava gena s številom in displazijo nevusov še ni povsem jasna. CDKN2A je visoko penetranten gen, saj je tveganje za pojav malignega melanoma pri nosilcih mutacije do osemdesetega leta starosti v Evropi 53 %, v ZDA 76 %, v Avstraliji pa kar 91 %. Podatek kaže, da na penetranco mutacije gena CDKN2A znatno vpliva tudi količina UV-žarkov v okolju, kjer živimo.

Pri majhnem številu družin je opisana mutacija visoko penetrantnega CDK4 gena na kromosomu 12, ki inhibira vezavo proteina p16, v zadnjem času pa so raziskave pokazale, da se na kratki ročici kromosoma 1 (1p22) nahaja lokus, ki je prav tako udeležen pri nastanku malignega melanoma (1, 2).

### **Nizko penetrantni aleli, gen MC1R**

Tudi nizko penetrantni aleli zvečajo tveganje za pojav malignega melanoma. Eden od teh genov je gen za receptor melanokortina (MC1R-gen). Izpostavljenost UV-žarkom zveča tvorbo melanina prek slabo poznanih mehanizmov, ki vključujejo neposreden učinek žarkov na melanocite, MSH-aktivacijo (melanocit stimulirajoči hormon ali melanotropin) melanocitov ter parakrini učinek dušikovega monoksida, ki ga izločajo keratinociti. MSH se veže na melanokortin-1-receptor melanocitov (MC1R) in stimulira tvorbo melanina. Ta je sestavljen iz dveh kemično različnih oblik pigmenta. Eumelanin, prevladujoč pigment pri ljudeh s temnejšo poltjo, je rjavočrn in deluje fotoprotektivno. Rdečerumen feomelanin ima šibek fotoprotektivni učinek, ob fotoaktivaciji pa nastanejo kisikovi prosti radikali, ki delujejo citotoksično in mutageno. Razmerje eumelanin/feomelanin v koži posameznika je odgovorno za različne tipe kože. Pri rdečelascih je prevladujoč pigment v koži in laseh feomelanin, poleg tega pa tvorijo manj eumelanina, zato je

njihova koža ob izpostavljenosti soncu hitro opečena in le malo porjavi. Kakšno bo razmerje pigmentov v koži, je odvisno od oblike MC1R. Gen za MC1R se nahaja na lokusu 16q24.3. Za ta gen je značilna visoka stopnja polimorfizma v populaciji, tveganje za pojav melanoma pa se pri nosilcu določenega alela zveča za 2- do 4-krat, a je znatno manjše kot pri mutaciji CDKN2A. Nekateri aleli so povezani z različnimi fenotipi oz. različnimi kliničnimi tipi kože. Trije aleli (Arg151Cys, Arg160Trp in Asp294His) so povezani s fenotipom, katerega značilnosti so rdeči lasje, pege in svetla polt, ki ne porjavi ter predstavlja večje tveganje za nastanek malignega melanoma. Pri nosilcih enega od teh alelov se zveča tveganje kljub temnejši, olivni polti. Poleg tega so nekateri aleli MC1R-gena verjetno udeleženi pri nastanku malignega melanoma neodvisno od njihovega učinka na fenotip. Največje tveganje je morda povezano z alelom Asp84Glu. V avstralski populaciji je 72 % bolnikov z melanomom nosilcev vsaj enega od opisanih alelov, v Veliki Britaniji pa 28 % preiskovancev. Poleg tega so raziskave pokazale, da naraste penetranca mutacije CDKN2A v prisotnosti enega od opisanih alelov s 50 % na 84 %, ob tem pa se zmanjša povprečna starost ob pojavu bolezni z 58 na 37 let (3, 4).

#### Družinska oblika malignega melanoma v Sloveniji

V Sloveniji se pri osebah z družinsko obliko malignega melanoma določa prisotnost mutacije na eksonih gena CDKN2A, ki kodirajo protein p16. Raziskava poteka v sodelovanju z genetskim laboratorijem Pediatrične klinike v Ljubljani od leta 2002. Do sedaj je preiskanih 10 družin z družinsko obliko melanoma. V 50 % preiskovanih družin je dokazana funkcionalno pomembna mutacija CDKN2A-gena, kar je več, kot je opisano v raziskavah na drugih populacijah. Pri vsaki od petih družin je prisotna druga mutacija, dve od teh do sedaj še nista bili opisani.

V družini s tremi bolniki je bila odkrita nova točkovna mutacija, substitucija v drugem eksonu, ki spremeni aminokislinsko zaporedje proteina p16. Prva bolnica je zbolela pri 57 letih s štirimi sinhronimi primarnimi melanomi, v naslednjih dveh letih pa je bil odkrit še peti. Poleg nje so heterozigotni nosilci mutacije še štirje sorodniki. Mlajši sorodnik v drugem kolenu je zbolel pri 30 letih, kar velja za zgoden začetek bolezni, poleg tega pa smo pred kratkim odkrili melanom tudi pri sorodniku v prvem kolenu, ki je zbolel pri 41 letih.

V drugi družini je bila ugotovljena substitucija na področju izrezovalnega zaporedja na meji drugega eksona. Do sedaj je bila opisana le podobna mutacija na istem mestu, ki povzroči moteno izrezovanje drugega eksona in nastanek nefunkcionalnih proteinov p16 in p14ARF.

V tretji družini je bolnik z multiplimi primarnimi melanomi, ki je homozigot za točkovno mutacijo v prvem eksonu, ki povzroči zamenjavo aminokislin in je opisana pri dveh družinah v Italiji in Franciji.

Četrta odkrita mutacija je bila pogosto opisana predvsem v Franciji ter v osrednji in severni Italiji. Tudi v tem primeru gre za mutacijo drugega eksona in zamenjavo aminokislin.

Mutacija, odkrita pri peti družini, je prisotna tudi drugod v Evropi in v Avstraliji. Najdemo jo na prvem eksonu, posledica pa je zamenjava aminokislin (5).

Začeli smo tudi z analizo eksona 1b, kjer se lahko nahaja mutacija, ki prizadane izključno delovanje p14ARF. Poleg tega skušamo ugotoviti, kateri od opisanih alelov gena MC1R, ki so povezani z večjim tveganjem za razvoj melanoma, so prisotni v slovenskih družinah. S pomočjo dobljenih rezultatov bomo določili prevalenco in penetranco gena CDKN2A in gena MC1R pri slovenskih družinah z malignim melanomom.

#### Sklep

Kljub velikemu napredku pri zdravljenju malignega melanoma sta zgodnje odkritje in kirurško zdravljenje še vedno najpomembnejša dejavnika, ki vplivata na preživetje. Poznavanje genov, ki so povezani z večjim tveganjem za nastanek malignega melanoma, omogoča gensko testiranje, pri odkritih osebah z visokim tveganjem pa zgodnje odkritje malignega melanoma. Trenutno se gensko testiranje izvaja le v raziskovalne namene. Odsotnost znane mutacije v neki družini namreč ne izključuje zvečanega tveganja za nastanek melanoma, saj so lahko vključeni še neznani geni. Poleg tega v primeru odkrite mutacije ne moremo predvideti, kdaj se bo pojavila bolezen in kakšen bo njen potek. Kljub temu je smiselno ponuditi testiranje bolnikom z dvema ali več obolelimi člani družine in bolnikom z več kot dvema primarnima melanomoma. Žal enotnega priporočila za nadaljnjo obravnavo nosilcev mutacij še nimamo. Bolnika, ki je nosilec mutacije, je treba poučiti o pomenu samopregledovanja. Svetujejo se tudi polletni pregledi pri specialistu, v primeru klinično sumljivih kožnih sprememb pa se je bolje odločiti za zgodnjo odstranitev kot za spremljanje in opazovanje. Pomembna je seveda tudi uporaba zaščitnih sredstev in izogibanje pretirani izpostavljenosti sončnim žarkom.

Vloga genskega testiranja pri odkrivanju in zdravljenju malignega melanoma je predmet številnih raziskav po vsem svetu.

#### Viri

- (1) Tsao H, Sober AJ, Niendorf BK, Zembowicz A. Case 6-2004: a 48-year-old woman with multiple pigmented lesions and a personal and family history of melanoma. *N Engl J Med* 2004; 350: 924-932.
- (2) de Snoo FA, Bergman W, Gruis NA. Familial melanoma: a complex disorder leading to controversy on DNA testing. *Fam Cancer* 2003; 2(2): 109-116.
- (3) Gibbs P, Brady BM, Robinson WA. The genes and genetics of malignant melanoma. *J Cutan Med Surg* 2002; 6(3): 229-235.
- (4) Kennedy C, Huurne J, Berkhout M, Gruis N, Bastiaens M, Bergman W et al. Melanocortin 1 receptor (MC1R) gene variants are associated with an increased risk for cutaneous melanoma which is largely independent of skin type and hair color. *J Invest Dermatol* 2001; 117(2): 294-300.
- (5) Avbelj M, Hocevar M, Trebusak-Podkrajsek K, Krzisnik C, Battelino T. A novel L94Q mutation in the CDKN2A gene in a melanoma kindred. *Melanoma Res* 2003; 13(6): 567-570.